

Dynamique des populations fongiques et bactériennes de la rhizosphère des noisetiers truffiers.

I. Relation avec le statut hydrique du sol

Jean-Marc OLIVIER & Michèle MAMOUN

I.N.R.A., Station de Recherches sur les Champignons, Centre de Recherches de Bordeaux, Villenave d'Ornon, F 33140 Pont-de-la-Maye

RÉSUMÉ

La création de truffières se fait essentiellement à partir de plants mycorhizés par *Tuber melanosporum* en conditions contrôlées. Le maintien, après plantation, de l'association établie en serre est déterminant pour l'évolution des plantations. Une étude microbiologique a été entreprise afin de définir les éléments biotiques conditionnant la pérennité de la symbiose. La dynamique des populations bactériennes et fongiques saprophytes est suivie dans une truffière expérimentale au cours des saisons et à trois niveaux : rhizoplan, rhizosphère de noisetiers mycorhizés, et sol nu. Les bactéries non fluorescentes, les actinomycètes et la flore fongique ne présentent pas de variations significatives avec l'approche utilisée. Par contre, les populations de *Pseudomonas* fluorescents du rhizoplan montrent d'importantes fluctuations saisonnières étroitement corrélées aux conditions hydriques du sol. Les conséquences sur la nutrition des arbres et sur la pérennité de la symbiose sont discutées.

Mots clés additionnels : Symbiose, truffe, *Tuber*, bactéries, *Pseudomonas fluorescents*, champignons saprophytes, noisetier, *Corylus avellana* (L.).

SUMMARY

Dynamics of fungal and bacterial populations in the rhizosphere of truffle-producing hazelnut trees. I. Relation with the soil water content.

Modern truffle culture is based on the controlled mycorrhization of seedlings by *Tuber melanosporum*. The development of production in a truffle orchard depends on the perenniality of the symbiosis after planting. Microbial studies were carried out to determine the action of micro-organisms on the mycorrhizal association. The dynamics of the bacterial and fungal populations were observed at different seasons and locations : rhizoplane and rhizosphere of mycorrhized hazelnut trees, and bulk soil. No significant differences were encountered with saprophytic fungi, actinomycetes or non-fluorescent bacteria. However, fluorescent *Pseudomonas* spp. showed high seasonal variations strongly correlated with the water content of the soil. The relationship between the nutrition of the trees and the perenniality of the symbiosis is discussed.

Additional key words : Symbiosis, truffle, *Tuber*, bacteria, fluorescent *Pseudomonas*, saprophytic fungi, *Hazelnut tree*, *Corylus avellana* (L.).

I. INTRODUCTION

L'exploitation de la truffe noire *Tuber melanosporum* (Vitt.) a longtemps été pratiquée de façon empirique, et ne fait l'objet d'une véritable culture que depuis ces dernières décennies.

L'obtention de la synthèse mycorhizienne (FASSI & FONTANA, 1967) est à l'origine des pratiques actuelles basées sur la mycorhization contrôlée (GRENTE *et al.*, 1972; CHEVALIER & GRENTE, 1973; DELMAS & POITOU, 1978).

La réceptivité du sol à la symbiose obtenue en serre est déterminante pour la rentabilité des plantations.

En pratique culturale, on se heurte à 2 problèmes majeurs ; d'une part, une importante hétérogénéité dans le développement des plants issus de semis et dans leur aptitude à produire la truffe et, d'autre part, la régression de *Tuber melanosporum* au profit d'espèces compétitrices dont *Coenococcum*, *Scleroderma* et *Tuber brumale* (Vitt.).

Le clonage des plants (SALESSES *et al.*, 1988) devrait résoudre, du moins en partie, le premier point ; quant au

second il fait, pour un de ses aspects, l'objet du présent article.

L'étude des compétitions microbiologiques dans les sols truffiers a été entreprise afin de définir les facteurs jouant un rôle sur la pérennité de la symbiose. Après plantation en sol agricole du plant truffier, les mycorhizes de *Tuber melanosporum* se trouvent soumises à l'influence des espèces mycorhiziennes et saprophytes indigènes. CHEVALIER *et al.* (1982) s'intéressent au devenir de la mycorhization en relation avec les interactions entre *Tuber melanosporum* et les champignons ectomycorhizogènes naturellement présents sur la parcelle : autres truffes et espèces non comestibles.

La compétition *in vitro* entre *T. melanosporum* et *T. brumale* est étudiée en liaison avec le pH (POITOU *et al.*, 1983 ; MAMOUN *et al.*, 1985) et les oligo-éléments, en particulier le cuivre et le fer (POITOU & CASSIN, 1987).

Le travail présenté dans cet article concerne les interactions entre *Tuber* et la microflore saprophyte de la rhizosphère. La littérature apporte peu de renseignements sur l'environnement microbiologique du plant truffier et presque exclusivement sur la flore fongique (MARLETTO, 1969 ; LUPPI-MOSCA, 1972 ; LUPPI-MOSCA *et al.*, 1977). Pour cette raison une étude globale portant à la fois sur la flore fongique et sur les populations bactériennes a été entreprise. Ce sont les premiers résultats qui ont orienté les travaux ultérieurs vers les *Pseudomonas*, bactéries particulièrement importantes dans la rhizosphère (DOMMERMUES & MANGENOT, 1970 ; CAMPBELL, 1985).

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

La cinétique bactérienne et fongique est suivie sur la truffière expérimentale I.N.R.A. de Coulaures (Dordogne). Les caractéristiques du sol sont résumées sur le tableau 1. Les noisetiers de la plantation sont âgés de 5 à 8 ans, porteurs de mycorhizes de *T. melanosporum* et de *T. brumale*, et ne produisent pour l'instant que *T. brumale*.

TABLEAU 1

Caractéristiques du sol de la truffière expérimentale (horizon 0-20 cm).
Analyses INRA - Arras.
Soil characteristics of the experimental truffle orchard. (0-20 cm depth). INRA - Arras Analysis.

pH (eau)		7,5 - 7,9
Matières organiques	p. 1 000	75 - 98
N (Kjeldahl)	p. 1 000	5
C/N		10
Calcaire total	p. 1 000	40 - 100
Acide phosphorique (HF) (P ₂ O ₅)	mcq. p. 100 g	8,52
Potassium échangeable (K ₂ O)	mcq. p. 100 g	0,21 - 0,42
Magnésium échangeable (K ₂ O)	mcq. p. 100 g	0,49
Ca échangeable (CaO)	mcq. p. 100 g	30,07
Fe total	p. 100	4
Fe (hydroxydes)	p. 100	3

Six arbres, répartis sur l'ensemble de la parcelle, ont été choisis au hasard comme représentatifs de la popu-

lation. Trois zones de prélèvements sont définies au niveau de chaque noisetier : le rhizoplan d'une racine mycorhizée par *T. melanosporum* (parfois associée avec *T. brumale*), la proche rhizosphère, et le sol nu.

Dans le premier cas, l'échantillon est constitué par un ensemble (environ 5 cm de long) de racines courtes avec leurs mycorhizes de *Tuber* et leur terre adhérente (environ 100 mg M.S.) ; dans le second, 10 g de matière fraîche (M.F.) sont prélevés dans une gaine de terre d'environ 5 mm de rayon enrobant la racine. Pour le sol nu le prélèvement (10 g M.F.) est effectué dans l'inter-rang, en dehors de tout système racinaire, soit à 2 mètres environ du tronc.

Les analyses sont conduites selon une technique dérivée de celle dite des suspensions-dilutions décrite par OLIVIER & GUILLAUMES (1976). Les échantillons sont soumis à agitation dans une solution dispersante (bactopeptone Difco : 1,2 g ; pyrophosphate de sodium : 6,0 g ; eau distillée : 1 000 ml) afin de séparer les différents micro-organismes présents.

La flore fongique est isolée sur milieu malt (crustomalt Difal : 10 g/l) additionné d'une solution d'antibiotiques (chlorhydrate d'auréomycine : 100 mg ; sulfate de streptomycine : 500 mg ; benzylpenicillate de sodium à 1 M.U. : 250 mg ; eau distillée : 100 ml) à raison de 5 ml/l de milieu.

Les bactéries sont dénombrées sur milieu B de King (KING *et al.*, 1954) complété par une solution d'actidione (Cycloheximide Sigma) à 2,5 p. 100 dans l'éthanol à 96 p. 100 vol., à raison de 1 ml/l de milieu, afin de bloquer le développement des eucaryotes.

Les bactéries non fluorescentes et les actinomycètes sont déterminés par comptage direct, les *Pseudomonas* fluorescents sont relevés par lecture sous éclairage en proche ultraviolet ($\lambda = 258$ nm). Les *Pseudomonas* fluorescents isolés appartiennent aux espèces *fluorescens*, *putida* et aux 2 groupes intermédiaires, définis selon PALLERONI (1984).

Les populations fongiques sont identifiées au niveau du genre par observation au microscope optique selon les données de DOMSCH *et al.* (1980). Seul *Aspergillus niger* a été différencié au niveau de l'espèce.

La teneur en eau du sol est déterminée par évaluation de la matière sèche après déshydratation des échantillons 24 h à 110 °C.

Les analyses sont effectuées en décembre et février pour la période hivernale (période de récoltes des truffes), et durant les mois de juin et septembre pour l'été. La cinétique est suivie pendant plusieurs saisons afin de minimiser les variations occasionnelles et de dégager un comportement répétitif caractéristique des organismes étudiés.

Par zone de prélèvement, on dispose pour chaque date de 6 échantillons (soit un par arbre), chacun traité séparément (une série de dilutions au 10^e et 3 répétitions par dilution). Les moyennes sont calculées sur les 6 échantillons et l'intervalle de confiance au seuil de 95 p. 100 est établi. Les effectifs moyens sont exprimés en logarithme (log) du nombre d'unités formant une colonie (CFU/g de terre, matière sèche). Le seuil de détection, placé assez haut (10³ CFU/g), n'a pas permis dans un cas seulement (fig. 4, analyse de septembre) de détecter la présence de *Pseudomonas*. La valeur indiquée à cette date est donc surestimée. Par la suite, le seuil de détection a été abaissé à 10² CFU/g.

Les régressions linéaires sont calculées selon la méthode décrite par SNEDECOR & COCHRAN (1984). Le coefficient de corrélation (r) détermine le degré de corrélation linéaire entre les 2 facteurs étudiés, le coefficient de régression (r^2) donne la proportion de la variance de la variable y (ici : effectifs de *Pseudomonas*) qui peut être expliquée par sa relation avec la variable x (ici : teneur en eau) (SNEDECOR & COCHRAN, 1984).

L'analyse factorielle discriminante a été effectuée à l'aide du logiciel statistique AMANCE (BACHACOU *et al.*, 1981).

III. RÉSULTATS

Les populations fongiques saprophytes dominantes sont représentées figure 1.

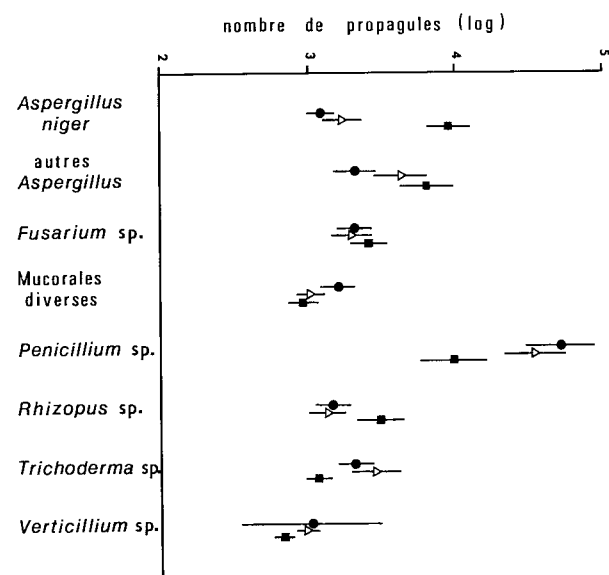


Figure 1

Flore fongique saprophyte dominante dans le sol de la truffière expérimentale.

● rhizoplan △ rhizosphère ■ sol nu

Predominating saprophytic fungi present in the soil of the experimental truffle orchard.

● rhizoplane △ rhizosphere ■ bulk soil

Mis à part *Aspergillus niger* et *Penicillium*, cette flore ne présente aucune variation quantitative ou qualitative, tant saisonnière que liée au site de prélèvement. *A. niger* semble caractéristique du sol nu (10 fois plus abondant que sur le rhizoplan) mais se maintient à un niveau constant au cours des saisons. Un comportement inverse est noté avec les *Penicillium* (toutes espèces confondues) qui sont plus abondants au niveau du rhizoplan. Les *Verticillium* présentent une cinétique de développement particulière. En règle générale, il n'y a pas de différence significative entre populations issues du sol nu ou de la surface racinaire ; cependant, on note parfois une prolifération importante de *Verticillium* au niveau du rhizoplan, d'où l'intervalle de confiance particulièrement élevé. Aucun élément ne permet d'expliquer ce fait irrégulier qu'on se contentera d'enregistrer en

raison de sa répétition et d'une absence de liaison avec tel ou tel arbre.

La flore bactérienne totale, de l'ordre de $5 \cdot 10^7$ CFU/g de terre (M.S.), ne présente pas de variations saisonnières significatives (fig. 2a). Les effectifs sont sensiblement identiques au niveau rhizoplan, proche rhizosphère et sol nu.

Ce même comportement est observé pour les germes non fluorescents (fig. 2b) qui constituent l'essentiel de la population bactérienne.

Les dénombrements des *Pseudomonas* fluorescents, par contre, ont révélé des variations intéressantes : dans le sol nu, les effectifs de *Pseudomonas* sont relativement constants (pas de différence significative au seuil de confiance de 95 p.100) et se situent autour de $5 \cdot 10^4$ CFU/g de terre (M.S.) (fig. 3). Par contre, au contact du rhizoplan, ils présentent d'importantes fluctuations saisonnières. En hiver, les populations sont à un niveau moyen au moins égal à celui observé dans le sol nu, puis elles diminuent brutalement au printemps et se maintiennent à un niveau très bas en été. Ces bactéries se multiplient activement à l'automne pour atteindre à nouveau (ou dépasser, mais non significativement) l'effectif trouvé dans le sol nu.

Ce même comportement existe dans la proche rhizosphère, mais très atténué.

Hors rhizosphère, il ne semble exister aucune relation entre activité des *Pseudomonas* et teneur en eau du sol (fig. 4). L'eau varie de façon significative au cours des saisons alors que les effectifs de *Pseudomonas* restent relativement constants.

Par contre, au contact du rhizoplan, les populations de *Pseudomonas* et la teneur en eau fluctuent de façon simultanée (fig. 5), et le degré de signification des variations observées entre les différentes dates est comparable pour les 2 facteurs étudiés.

Pour chaque site de prélèvement une régression linéaire a été calculée sur les couples de données « teneur en eau - effectifs de *Pseudomonas* » aux différentes dates (fig. 6).

Le coefficient de corrélation obtenu pour le rhizoplan ($r = 0,65$) est hautement significatif au seuil de 1 p. 1 000, et le coefficient de régression (r^2) permet d'attribuer aux variations de la teneur en eau 42 p. 100 des fluctuations des effectifs de *Pseudomonas*. Cette interaction s'atténue à mesure que l'on s'éloigne du rhizoplan. Dans la proche rhizosphère la corrélation déjà nettement plus faible ($r = 0,49$), mais bien qu'encore significative, ne fait plus intervenir l'eau que dans 24 p. 100 des variations des effectifs de *Pseudomonas*. Dans le sol nu, aucune relation claire n'est établie ($r = 0,16$; non significatif), et 2,5 p. 100 seulement des fluctuations des populations bactériennes peuvent s'expliquer par les variations de la teneur en eau.

Une analyse factorielle discriminante (fig. 7) met en évidence l'implication des 2 facteurs, saison et zone de prélèvement, dans la relation « eau - *Pseudomonas* ». Le choix des 2 premiers axes pour la représentation graphique permet d'expliquer le phénomène respectivement à 66 p. 100 en hiver et 63 p. 100 en été. Les 3 sites (rhizoplan, proche rhizosphère et sol nu) ne diffèrent pas en hiver. En été, par contre, le degré d'interaction « eau - *Pseudomonas* » est nettement lié au site. L'axe 1' représente essentiellement un effet *Pseudomonas*. Les varia-

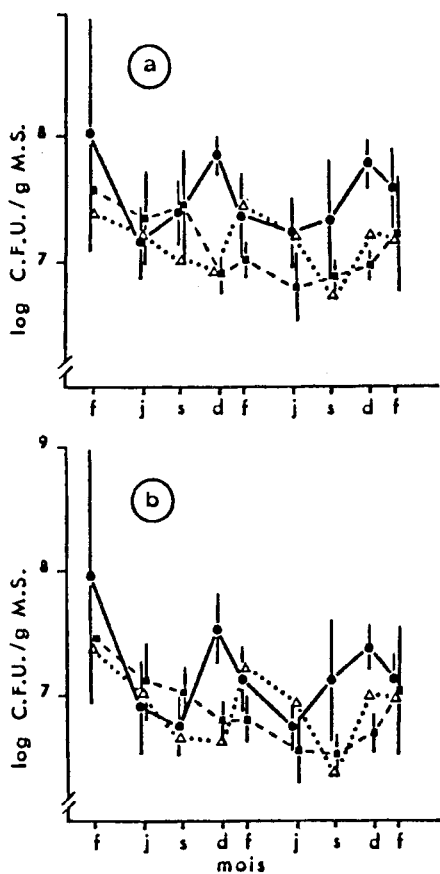


Figure 2
 Fluctuations saisonnières des effectifs bactériens dans un sol truffier.
 a flore bactérienne totale b bactéries non fluorescentes
 ● —● rhizoplan △ ····· △ rhizosphère
 ■ ---- ■ sol nu
 Seasonal variations of bacterial population levels in a truffle-producing site.
 a total bacterial flora b non-fluorescent bacteria
 ● —● rhizoplane △ ····· △ rhizosphere
 ■ ---- ■ bulk soil

tions de la teneur en eau étant sensiblement identiques pour les 3 sites, elles sont uniformément réparties sur les 2 axes.

IV. DISCUSSION

La flore fongique saprophyte des truffières ne présente aucune particularité notable par rapport à celle rencontrée habituellement dans les sols (aux limites méthodologiques près), et plus particulièrement en sols truffiers étudiés par LUPPI-MOSCA (1972), LUPPI-MOSCA *et al.* (1977). L'absence de variations qualitatives entre la mycoflore rhizosphérique et celle du sol nu va dans le sens des observations de COOKE & RAYNER (1984). Par contre, sur le plan quantitatif, dans l'écosystème étudié ici le développement de *A. niger* semble en partie inhibé au niveau des racines, alors que selon cet auteur plusieurs espèces de champignons (les *Fusarium*, par exemple) seraient favorisées par les conditions rencontrées dans la rhizosphère. Dans notre cas, les *Penicillium*

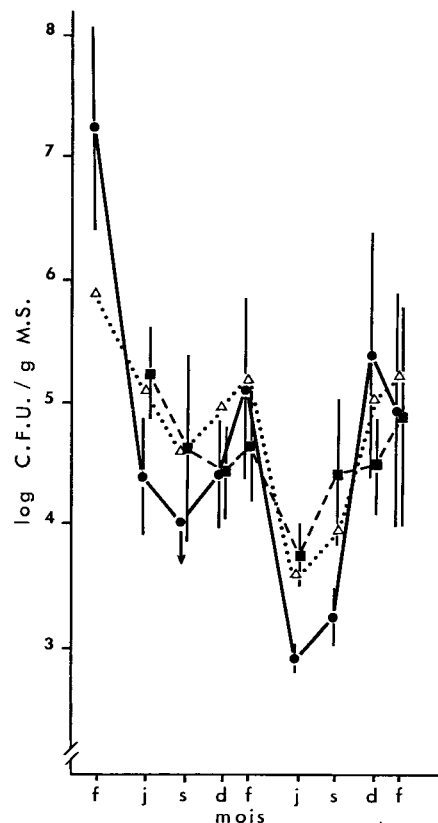


Figure 3
 Fluctuations saisonnières des effectifs de *Pseudomonas fluorescens* dans un sol truffier.
 ● —● rhizoplan △ ····· △ rhizosphère
 ■ ---- ■ sol nu
 Seasonal variations of fluorescent *Pseudomonas* levels in a truffle-producing site.
 ● —● rhizoplane △ ····· △ rhizosphere
 ■ ---- ■ bulk soil

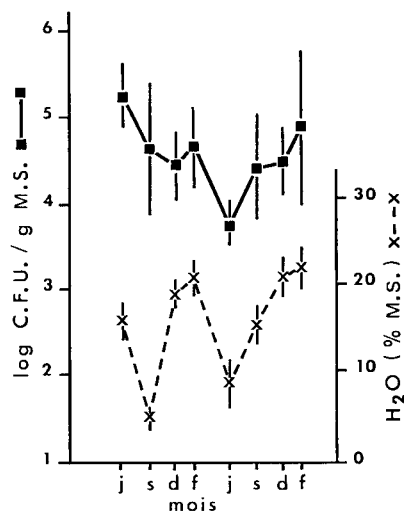


Figure 4
 Fluctuation des effectifs de *Pseudomonas* en rapport avec la teneur en eau dans le sol nu.
 Seasonal variations of *Pseudomonas* levels with respect to soil water content in the bulk soil.

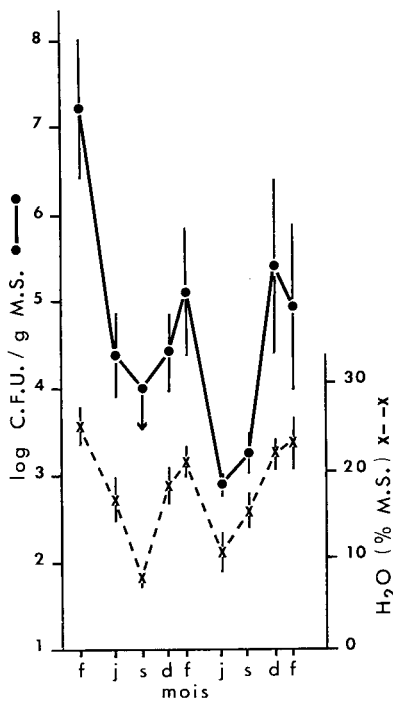


Figure 5

Fluctuations des effectifs de *Pseudomonas* en rapport avec la teneur en eau du sol au niveau du rhizoplan.

Seasonal variations of *Pseudomonas* levels and soil water content on the rhizoplane surface.

semblent répondre ainsi. LUPPI-MOSCA *et al.* (1977) attribuent cette stimulation aux métabolites de truffe.

Dans un précédent article (MAMOUN *et al.*, 1985), les *Trichoderma* ont été signalés comme surtout présents sur le rhizoplan. Par la suite, un suivi plus long des cultures a permis de mettre en évidence hors rhizosphère des *Trichoderma* à fructification beaucoup plus tardive que celle observée chez les isolats provenant du rhizoplan, ce qui laisse supposer des différences au niveau espèce ou biotype.

En tenant compte de ces observations, les niveaux de populations isolées dans les 3 zones de prélèvements sont sensiblement identiques si on arrête la détermination au niveau du genre. Une analyse plus précise des espèces, par exemple l'identification par électrophorèse de protéines pourrait apporter quelques indications supplémentaires.

En ce qui concerne la flore bactérienne, CAMPBELL (1985) signale pour le rapport R/S (nombre de germes dans la rhizosphère/nombre dans le sol nu) une grande variation due à la nature de la plante et des micro-organismes isolés. BAREA & AZCON-AGUILAR (1982) rapportent des travaux montrant d'importantes fluctuations chez les populations rhizosphériques et une faible activité bactérienne dans le sol nu.

Dans le système étudié, les cinétiques obtenues font apparaître une différence de comportement très marquée entre les bactéries non fluorescentes dans leur ensemble et les *Pseudomonas*.

Pour les premières, l'absence de variations quantitatives tant au niveau site d'isolement qu'au cours des saisons conduit à penser que ces germes constituent un

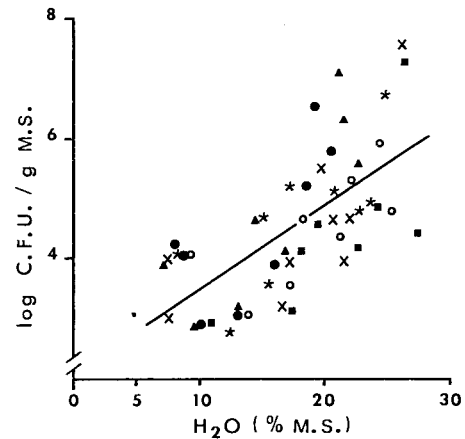


Figure 6

Corrélation linéaire entre effectifs de *Pseudomonas* et teneur en eau du sol au niveau du rhizoplan. (Les échantillons provenant du même arbre sont représentés avec le même symbole.)

Linear correlation between *Pseudomonas* levels and soil water content on the rhizoplane surface. (The same symbol is used for the samples issued from the same tree.)

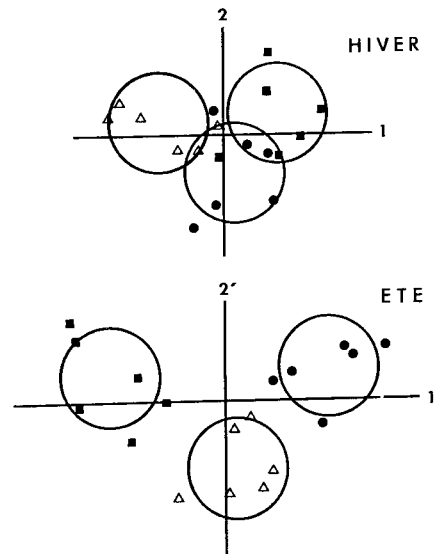


Figure 7

Analyse factorielle discriminante des interactions entre la teneur en eau du sol, les effectifs de *Pseudomonas* et la zone de prélèvement des échantillons. Comparaison hiver-été.

● rhizoplane △ rhizosphère ■ sol nu

Discriminant analysis of the interactions between soil water content, *Pseudomonas* levels and sampling locations. Comparison between winter and summer.

● rhizoplane △ rhizosphere ■ bulk soil

« bruit de fond » dans cet écosystème, ce qui n'exclut pas pour autant qu'ils puissent avoir un rôle à jouer. Là encore une analyse taxonomique aurait peut-être révélé des différences, quoiqu'une numération sommaire de quelques types caractéristiques (bacilles, actinomycètes) n'ait pas montré de variations.

Les fluctuations saisonnières des effectifs de *Pseudomonas* s'estompant à mesure que l'on s'éloigne de la racine, l'activité de ces germes semble sous la dépendance du proche environnement racinaire, c'est-à-dire de la zone où, en plus des exsudats végétaux, sont présents les mycorhizes et le mycélium de truffe. Le rôle

des mycorhizes par rapport à une racine seule ne peut être estimé dans notre expérience toutes les racines étant porteuses de symbiotes.

Il est, par contre, établi que l'activité des *Pseudomonas* du rhizoplan des noisetiers truffiers est étroitement liée aux variations de l'eau dans le sol. Ces observations rejoignent les données rapportées pour d'autres modèles (DUPLER & BAKER, 1984 ; PARKE *et al.*, 1986 ; LEMANCEAU, 1988).

Parallèlement, il a été montré que les champignons ectomycorhiziens participent activement à l'alimentation hydrique de la plante hôte, les hyphes mycéliennes pouvant capter l'eau à plusieurs centimètres des racines (GIANINAZZI-PEARSON, 1982 ; DIXON *et al.*, 1983). LE TACON *et al.* (1982) ont observé une production de *Tuber* sur des placeaux ayant bénéficié d'un apport d'eau d'environ 100 mm pendant la période de sécheresse estivale, alors que la récolte a été pratiquement nulle en absence d'irrigation.

Par ailleurs, en sol moins drainant que dans l'expérience de LE TACON *et al.* (1982) un apport d'eau excessif en cours d'été (120 mm par mois), s'il est bénéfique pour l'arbre, entraîne une régression nette de la production de truffes à partir de la deuxième année et un arrêt de la fructification la troisième (VERLHAC, comm. pers.). Dans ce type d'expérimentation, en absence de contrôle de la mycorhization, il n'est pas possible de séparer ce qui concerne la fructification proprement dite de l'extension de la colonisation mycorhizienne.

Partant de ces différentes observations, on peut cependant envisager pour le modèle étudié un système d'équilibre complexe entre *Tuber* et *Pseudomonas*, lié à la disponibilité en eau dans le sol.

Une teneur minimale en eau (restant à déterminer) maintiendrait un équilibre favorable à la truffe. Un fort déficit hydrique serait néfaste à la fois pour la truffe et pour les *Pseudomonas*. En cas d'apport d'eau excessif, ce facteur n'étant plus limitant pour les *Pseudomonas*, on pourrait envisager une augmentation de leurs effectifs à une période où ils sont relativement bas dans des conditions normales (c'est-à-dire en été) ; ces bactéries pourraient alors entrer en compétition avec le mycélium de *Tuber*, soit assurant la colonisation, soit contribuant à la fructification.

Il faut également déterminer comment peut s'exercer l'interaction entre *Tuber* et *Pseudomonas*.

Deux cas de figure sont envisagés : l'antagonisme direct et la compétition.

Les *Pseudomonas* possèdent un fort pouvoir d'antibiose (HOWELL & STIPANOVIC, 1980 ; OLIVIER & GUILLAUMES, 1983 ; WELLER & COOK, 1986).

L'effet néfaste d'un isolat de *Pseudomonas* sur la colonisation de *P. radiata* par *Rhizopogon luteolus* semble lié à l'effet antibiose de la bactérie (BOWEN & THEODOROU, 1979).

Des essais de confrontation *in vitro* entre *Pseudomonas* et mycélium de *Tuber* ont révélé un important effet antagoniste de ces bactéries vis-à-vis de la truffe : 90 p. 100 des isolats utilisés sont fortement inhibiteurs

(MAMOUN *et al.*, 1985). S'il est délicat d'extrapoler *in vivo* ces observations, elles peuvent quand même guider les travaux ultérieurs.

Le pouvoir antagoniste observé chez les *Pseudomonas* est attribué dans d'autres circonstances, et en partie, aux sidérophores produits par ces bactéries (HOHNADÉL & MEYER, 1986 ; SCHER, 1986). Des sidérophores ont été mis en évidence chez les champignons mycorhiziens (SZANISLO *et al.*, 1981). Egalement selon KLOEPPER *et al.* (1980), la plante serait capable d'utiliser le fer des sidérophores des *Pseudomonas* pour prévenir la chlorose. La mycorhization est souvent associée à une résistance relative de la plante hôte à la chlorose (LE TACON, 1978), or le sol truffier est chlorosant, riche en calcaire actif, pauvre en fer directement assimilable par les plantes.

POITOU & CASSIN (1987) ont détecté dans les ascocarpes de *Tuber melanosporum* des teneurs en fer élevées (200 à 300 ppm) variant selon les teneurs en cet élément dans le sol, ce qui montre l'efficacité du mycélium à absorber et transporter le fer.

Partant de l'ensemble de ces observations, l'éventualité d'une compétition pour le fer est envisagée, en liaison avec le statut hydrique du sol, ce facteur jouant aussi un rôle sur la disponibilité du fer.

Pour expliquer la résistance du plant truffier à la chlorose, sachant que l'activité végétative hivernale du noisetier est loin d'être négligeable (BARNOLA *et al.*, 1976), on pourrait alors envisager un système de relais entre la truffe (qui interviendrait plutôt en période printanière et estivale), et les *Pseudomonas* (qui seraient plutôt actifs en hiver).

Cet équilibre naturel serait perturbé par des variations artificielles excessives du potentiel hydrique (forte irrigation), entraînant un phénomène de compétition entre *Tuber* et *Pseudomonas*. En résumé, on serait en présence d'un équilibre fragile, ces bactéries pouvant passer d'un état utile en conditions favorables à l'extension de l'infection mycorhizienne à un état défavorable en cas de perturbations importantes de l'écosystème.

Pour vérifier ces hypothèses, il est procédé au suivi microbiologique de sols de truffières ayant subi différents niveaux d'irrigation. Ces observations *in situ* sont complétées par des essais en serre mettant en comparaison des plants mycorhizés maintenus à différents potentiels hydriques et éventuellement inoculés avec différentes populations de *Pseudomonas*, et par des cultures axéniques-hydroponiques (permettant de contrôler la mycorhization, la microflore bactérienne introduite et l'assimilation du fer).

Reçu le 14 mars 1988.

Accepté le 13 juin 1988.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient N. POITOU (I.N.R.A., Bordeaux), pour les analyses de sols, P. L. LEFORT (I.N.R.A., Bordeaux), pour l'aide à l'interprétation statistique, et P. LEMANCEAU (I.N.R.A., Dijon), G. CHEVALIER (I.N.R.A., Clermont-Ferrand) et F. LE TACON (I.N.R.A., Nancy), pour la discussion des résultats.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bachacou J., Masson J. P., Millier C.**, 1981. *Manuel de la programmation statistique AMANCE*. Départ. Biométrie, I.N.R.A., Paris, 516 p.
- Barea J. M., Azcón-Aguilar G.**, 1982. Interactions between mycorrhizal fungi and soil microorganisms. *Colloq. I.N.R.A.*, **13**, 181-193.
- Barnola P., Champagnat P., Lavarenne S.**, 1976. Taille en vert des rameaux et dormance des bourgeons chez le noisetier. *C. R. Acad. Agr. Fr.*, **62**, 1163-1171.
- Bowen G. D., Theodorou C.**, 1979. Interactions between bacteria and ectomycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.*, **11**, 119-126.
- Campbell R.**, 1985. *Plant microbiology*. ARNOLD ed., Londres, 191 p.
- Chevalier G., Grente J.**, 1973. Propagation de la mycorrhization par la truffe à partir de racines excisées et de plantules inséminatrices. *Ann. Phytopathol.*, **5** (3), 317.
- Chevalier G., Giraud M., Bardet M. Ch.**, 1982. Interactions entre les mycorrhizes de *Tuber melanosporum* et celles d'autres champignons ectomycorrhiziens en sols favorables à la truffe. *Colloq. I.N.R.A.*, **13**, 313-321.
- Cooke R. C., Rayner A. D. M.**, 1984. *Ecology of saprophytic fungi*. Longman ed., Londres, N.Y., 415 p.
- Delmas J., Poitou N.**, 1978. La mycorrhization de *Quercus pubescens* par *Tuber melanosporum* en conditions contrôlées : influence de quelques facteurs du milieu. *Mush. Sci. X, part I*, 995-1006.
- Dixon R. K., Pallardy S. G., Garret H. E., Cox G. S., Sander I. L.**, 1983. Comparative water relations of container-grown and bare-root ectomycorrhizal and non-mycorrhizal *Quercus velutina* seedlings. *Can. J. Bot.*, **61**, 1559-1565.
- Dommergues Y., Manganot F.**, 1970. *Ecologie microbienne du sol*. Masson ed., Paris, 796 p.
- Domsch K. H., Gams W., Anderson T. H.**, 1980. *Compendium of soil fungi*, vol. 1. Acad. Press ed., Londres, N. Y., 859 p.
- Dupler M., Baker R.**, 1984. Survival of *Pseudomonas putida*, a biological control in soil. *Phytopathology*, **74**, 195-200.
- Fassi B., Fontana A.**, 1967. Sintesi micorrizica tra *Pinus strobus* e *Tuber maculatum*. I. Micorrizze e sviluppo nel secondo anno. *Allionia*, **13**, 177-186.
- Gianinazzi-Pearson V.**, 1982. Importance des mycorrhizes dans la nutrition et la physiologie des plantes. *Colloq. I.N.R.A.*, **13**, 51-59.
- Grente J., Chevalier G., Pollacsek A.**, 1972. La germination de l'ascospore de *Tuber melanosporum* et la synthèse sporale des mycorrhizes. *C. R. Acad. Sci. Ser. D*, **275**, 743-746.
- Hohnadel D., Meyer J. M.**, 1986. Pyoverdine-facilitated iron uptake among fluorescent pseudomonas, p. 119-129. In *Iron, Siderophores and Plant diseases*, Swinburne, T. R. ed., NATO-Plenum, Londres, 351 p.
- Howell C. R., Stipanovic R. D.**, 1980. Suppression of *Pythium ultimum*-induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic pyoluteorin; *Phytopathology*, **70**, 712-715.
- King E. D., Ward M. K., Raney D. E.**, 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.*, **44**, 301-307.
- Klopper J. W., Leong J., Teintze M., Schroth M. N.**, 1980. Pseudomonas siderophores : a mechanism explaining disease-suppressive soils. *Curr. Microbiol.*, **4**, 317-320.
- Lemanceau P.**, 1988. *Réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires : étude critique des théories proposées* ; Thèse doct. d'Univ., Lyon I, 9 février 1988, 95 p.
- Le Tacon F., Delmas J., Gleyze R., Bouchard D.**, 1982. Influence du régime hydrique du sol et de la fertilisation sur la fructification de la truffe noire du Périgord (*Tuber melanosporum* Vitt.) dans le Sud-Est de la France. *Acta oecol., Oecol. appl.*, **3** (4), 291-306.
- Le Tacon F.**, 1978. La présence de calcaire dans le sol. Influence sur le comportement de l'épicéa commun (*Picea excelsa* Link.) et du pin noir d'Autriche (*Pinus nigra nigricans* Host.). *Ann. Sci. Forest.*, **35**, 165-174.
- Luppi-Mosca A. M.**, 1972. The mycoflora of rhizosphere in truffe sites. III. Mycological analyses of French truffe soils. *Allionia*, **18**, 33-40.
- Luppi-Mosca A. M., Fontana A.**, 1977. Researches on *Tuber melanosporum* ecology. IV. Mycological analyses of Central Italy truffe soils. *Allionia*, **22**, 105-114.
- Mamoun M., Poitou N., Olivier J. M.**, 1985. Etude des interactions entre *Tuber melanosporum* Vitt. et son environnement biotique, p. 761-765. In *Aspects physiol. génét. mycorrhizes*. 1^{er} Symposium Européen mycorrhizes, Dijon, I.N.R.A., Paris, 832 p.
- Marletto F.**, 1969. The mycoflora of rhizosphere in truffe culture sites. I. Truffe and rhizosphere yeasts in truffe cultures sites. *Allionia*, **15**, 155-172.
- Olivier J. M., Guillaumes J.**, 1976. Etude écologique des composts de champignonnières. I. Evolution de la microflore pendant l'incubation. *Ann. Phytopathol.*, **8** (3), 283-301.
- Olivier J. M., Guillaumes J.**, 1983. Propriétés antagonistes des *Pseudomonas* fluorescents. *Colloq. I.N.R.A.*, **18**, 315-326.
- Palleroni N. J.**, 1984. *Pseudomonadaceae*, p. 141-199. In *Bergey's Manual of Systematic bacteriology*, vol. 1, Williams et Wilkins ed., Baltimore, Londres, 964 p.
- Parke J. L., Moen R., Rovira A. D., Bowen G. D.**, 1986. Soil water flow affects the rhizosphere distribution of a seed-borne biological control agent, *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biol. Biochem.*, **18** (6), 583-588.
- Poitou N., Cassin C.**, 1987. Interaction entre le cuivre et différents champignons ectomycorrhiziens comestibles. (FAL Braunschweig éd.). *Mush. Sci. XII* (sous presse).
- Poitou N., Villenave P., Baudet D., Delmas J.**, 1983. Croissance *in vitro* du mycélium de *Tuber melanosporum* Vitt. et de certains compétiteurs en fonction du pH du milieu. *C. R. Acad. Agric. France*, Séance du 9 novembre 1983, 1363-1370.
- Salesses G., Chassagne M., Olivier J. M., Poitou N., Guinberteau J.**, 1988. Le clonage des noisetiers truffiers : intérêt des vitro-plants. *C. R. Cong. trufficole de Saintes*, novembre 1987. In *Bull. FNPT n° 10*, CTIFL éd., Paris (sous presse).
- Scher F. M.**, 1986. Biological control of *Fusarium* wilts by *Pseudomonas putida* and its enhancement by EDDHA, p. 109-117. In *Iron, Siderophores and Plant diseases* Swinburne T. R., ed., NATO-Plenum, Londres, 351 p.
- Snedecor G. W., Cochran W. G.**, 1984. *Méthodes statistiques*. A.C.T.A., Paris, 6^e éd., 649 p.
- Szanislo P. J., Powell P. E., Reid C. P. P., Cline G. R.**, 1981. Production of hydroxamate siderophore iron chelators by ectomycorrhizal fungi. *Mycologia*, **73**, 1158-1174.
- Weller D. M., Cook R. J.**, 1986. Suppression of root diseases of wheat by fluorescent pseudomonas and mechanisms of action, p. 99-107. In *Iron, Siderophores and Plant diseases*, Swinburne T. R. ed., NATO-Plenum, Londres, 351 p.